MANUAL DE INSTRUCCIONES



REDIAR® Slide & Tube Anti-CDE.

Suero Hemoagrupador Monoclonal Humano IgM/IgG.

Para uso diagnóstico in vitro.

INTRODUCCIÓN

Descripto por primera vez en 1939, el antígeno RhD solamente es superado en importancia por los antígenos del grupo ABO. La transfusión de sangre RhD positiva a un receptor RhD negativo o la omisión de administrar anti-D profiláctico a una madre RhD negativa, puede resultar en una producción de anti-D. Por lo tanto, determinar el grupo Rh correcto es fundamental para una práctica transfusional segura.
Más de 50 antígenos diferentes se han reconocido como parte del sistema Rh. Con excepción del C, c, E y e, muy pocos de estos antígenos o sus correspondientes anticuerpos son encontrados en el trabajo de rutina. Los antígenos Rh están controlados por una serie de loci estrechamente conectados en el cromosoma 1, siendo heredada la contribución genética de cada progenitor como haplotipo, ej. Cde, cDE, etc.
Ciertos individuos presentan una disminución cuantitativa en la expresión de su antígeno RhD, siendo clasificados como D débiles o "weak" (Du). Otros presentan una variación cualitativa en la expresión de su antígeno RhD, siendo conocidos como D parcial. Los individuos D débil también pueden ser D parcial.

USO AL CUAL ESTÁ DESTINADO

REDIAR Slide & Tube Anti-CDE es empleado para detectar la presencia de los antígenos C, D y E en la superficie de los glóbulos rojos humanos empleando las técnicas en lámina y tubo.
Este reactivo detecta la mayoría de las muestras de glóbulos rojos D débiles y D parciales incluyendo la categoría DVI. La categoría DVI se detecta mediante la prueba anti-globulínica indirecta.
Este reactivo ha sido diseñado para ser utilizado por personal entrenado en técnicas serológicas en inmunohematología.

REACTIVO

Este reactivo es una mezcla de anticuerpos obtenidos de cultivos in vitro de hibridomas humanos: Anti-C IgM (MS-24), Anti-D IgM (MS-201), Anti-E IgM (MS-80) y Anti-D IgG (MS-26).
Este reactivo está formulado con anticuerpos monoclonales tipo IgM/IgG en una solución buffer que contiene potenciadores químicos, la formulación incluye además azida de sodio 0.1% (w/v) y material bovino. Este producto se provee esterilizado por filtración a 0.22 µm.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

Este reactivo debe ser conservado entre 2-8°C. No debe utilizarse si se observa turbidez y no debe diluirse. No utilizar más allá de su fecha de vencimiento.
El almacenamiento del producto a temperaturas incorrectas, por ejemplo, almacenar a altas temperaturas o congelaciones y descongelaciones repetidas, pueden llevar a la pérdida acelerada de la actividad del reactivo.

PRECAUCIONES PARA EL USO Y LA ELIMINACIÓN

Los donantes humanos de las células empleadas para producir los hibridomas han sido ensayados y encontrados no reactivos para Anti-HIV, Anti-HCV, HBsAg, EBV y MAP. Ningún método conocido puede garantizar que todos los productos derivados de sangre humana estén libres de agentes infecciosos. Se debe tener cuidado en el uso y descarte del envase y su contenido.
Este reactivo contiene 0,1% (w/v) de azida sódica. La azida sódica puede ser tóxica si se ingiere y puede reaccionar con las cañerías de plomo y cobre para formar sales altamente explosivas. Si se descarta por el desagote, enjuagar con grandes volúmenes de agua para prevenir la acumulación de azidas en las cañerías.
Este reactivo es para uso profesional in vitro solamente.
Este reactivo contiene material bovino obtenido de fuentes aprobadas por la USDA libre de Encefalopatía Espongiforme Transmisible (TSEs).
Este producto debe ser descartado por inmersión en desinfectantes (overnight) a una concentración adecuada o por autoclavado.

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

No se requiere una preparación especial del paciente/donante antes de la recolección de la muestra de sangre. Las muestras deben ser obtenidas por una técnica aséptica, recogida en un tubo con anticoagulante (EDTA, heparina o citrato), y conservada entre 2-8°C por un plazo no mayor a 7 días. Los mejores resultados se obtienen al procesar muestras frescas. Las muestras de sangre que presenten contaminación o hemólisis grosera no deberían ser utilizadas. Las muestras obtenidas de unidades de donación de sangre podrán ser ensayadas hasta la fecha de vencimiento de dicha unidad.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

INFORMACIÓN GENERAL

Este reactivo ha sido estandarizado para el uso mediante las técnicas recomendadas descriptas a continuación; por lo tanto, su desempeño en el uso mediante otras técnicas no puede ser garantizado. Se recomienda especialmente al usuario confirmar si este reactivo es adecuado antes de utilizarlo en técnicas alternativas.

Materiales y reactivos requeridos no provistos – Técnica en Lámina

- Solución Salina Isotónica.
- Láminas de vidrio
- Cronómetro

Materiales y reactivos requeridos no provistos – Técnica en Tubo

- Tubos de ensayo
- Centrífuga
- Solución Salina Isotónica
- Cronómetro
- Pipeta Pasteur
- Incubador a 37°C
- Micropipeta
- Tips

Materiales y reactivos requeridos no provistos – Técnica en Tubo – Prueba Anti-globulínica Indirecta para la detección del antígeno RhD débil y/o RhDVI

- Tubos de ensayo
- Incubador a 37°C
- Reactivo Anti-globulina Humana
- Centrífuga
- Solución Salina Isotónica
- Cronómetro
- Pipeta Pasteur
- Micropipeta
- Tips
- Glóbulos rojos sensibilizados IgG (Control de Coombs)

TÉCNICAS RECOMENDADAS

Técnica en Lámina

- Colocar una gota del reactivo anti-CDE en una lámina de vidrio limpia.
- A 1 cm. de distancia colocar una gota de sangre entera o una gota de suspensión globular al 35-50 % en solución salina isotónica.
- Mezclar la muestra y el reactivo empleando una varilla, en un área de 2 cm. de diámetro.
- Balancear la lámina sobre una fuente de luz difusa y observar macroscópicamente si existe aglutinación.
- La aglutinación en la mayoría de las muestras ocurre dentro de unos pocos segundos. Interpretar los resultados al cabo de 2 minutos.

Técnica en Tubo

- Preparar una suspensión globular al 3-5 % en solución salina isotónica.
- Colocar una gota del reactivo anti-CDE en tubos limpios previamente identificados.
- Agregar una gota de suspensión globular.
- Mezclar mediante una suave agitación.
- Centrifugar a 1000 g durante 20 segundos o a otra combinación adecuada de g y tiempo.
- Agitar suavemente el tubo a fin de deshacer el botón celular y observar macroscópicamente si existe aglutinación.
- Los resultados deben ser leídos inmediatamente.
- Los tubos con reacciones negativas o positivas débiles pueden ser incubados durante 5 minutos a 37°C, luego centrifugar y volver a leer.

Técnica en Tubo – Prueba Anti-globulínica Indirecta para la detección del antígeno RhD débil y/o RhDVI

- Re-incubar a 37°C por otros 10 minutos los tubos que no presenten aglutinación.
- Lavar las pruebas 3-4 veces con solución salina isotónica pH 7,0 ± 0,2 , asegurando en el último lavado la eliminación de la mayor parte de solución salina residual, para obtener un botón celular "seco".
- Agregar dos gotas de reactivo anti-globulina humana.
- Homogeneizar.
- Centrifugar a 1000 g por 20 segundos o a otra combinación adecuada de g y tiempo
- Agitar suavemente el tubo a fin de deshacer el botón celular en el fondo del mismo y observar macroscópicamente si hay aglutinación.
- Para confirmar que los resultados negativos son válidos, agregar glóbulos rojos sensibilizados IgG, repetir la centrifugación y examinar en busca de aglutinación. Si no se observa aglutinación la prueba es inválida y deberá repetirse.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Si se ha producido una aglutinación, la reacción es positiva y el antígeno correspondiente o los antígenos correspondientes al reactivo utilizado está/n presente/s en la membrana de los hematíes analizados. Si no ha habido aglutinación, la reacción es negativa y el antígeno no está presente en estos hematíes.

LIMITACIONES Y RECOMENDACIONES

Este reactivo no aglutinará células rG.
Si se utiliza sangre entera con bajo hematocrito se recomienda ajustar la concentración de glóbulos rojos (35-50%) antes de realizar la prueba en lámina.
La técnica en lámina no es recomendada para la detección de D débiles o D parciales.
No es indispensable utilizar un reactivo control paralelo a los ensayos usando este reactivo. Se recomienda el uso de un reactivo control durante el agrupamiento de glóbulos rojos de pacientes que posean autoanticuerpos, glóbulos rojos que poseen una prueba anti-globulínica positiva, niveles anormales de proteínas y glóbulos rojos de cordón.
Pueden obtenerse resultados falso negativos o falso positivos debido a la contaminación de los materiales empleados en la prueba, temperatura incorrecta de incubación, almacenamiento inadecuado de los materiales, omisión del reactivo de prueba o cualquier desviación de la técnica recomendada.
En la técnica en tubo se debe tener cuidado cuando se resuspende el botón celular ya que una agitación excesiva puede disgregar las aglutinaciones débiles y producir resultados falso negativos.
Es importante emplear la fuerza g y tiempo recomendados durante la centrifugación, ya que una excesiva centrifugación puede conducir a dificultades para resuspender el botón celular, mientras que una centrifugación insuficiente puede resultar en aglutinaciones que se disgregan con demasiada facilidad.
La expresión de algunos antígenos eritrocitarios puede disminuir en intensidad durante el almacenamiento, especialmente en aquellas muestras coaguladas o anticoaguladas con EDTA. Los mejores resultados se obtienen cuando se ensayan muestras frescas

SÍMBOLOS

Establecimiento Elaborador	Consultar el Manual de Instrucciones	IVD Producto para diagnóstico de uso in vitro
Fecha de Vencimiento	LOT Número de Lote	2°C–8°C Almacenar entre 2°– 8°C

BIBLIOGRAFÍA

1. Widmann F.K. Ed. Technical Manual 10 th Ed. Washington DC, AABB 1990, Chapter 11.
2. Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom. 5th Edition 2001. The Stationary Box.
3. Issit, P.D. and Anstee D.J. Aplied Blood Group Serology, 4th Edition, Montgomery Scientific Publications, Miami, Florida, USA, 1998.
4. Race RR and Sanger R. Blood groups in man. 6th edition. Oxford: Blackwell Scientific, 1975: 178.

PRODUCTO DE DIAGNÓSTICO DE USO IN VITRO AUTORIZADO POR LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA. Certificado Nº: 6229/07.



ELABORADO POR: FELSAN S.R.L. Palpa 3811, (C1427EBG), C.A.B.A. Argentina.
Director Técnico: Roque Luis Espinosa.
Consultas Técnicas: 4554-7990/8557. Mail: laboratorio@felsan.com.ar

REV-01/08